

BIONOTE 바이오노트 소 브루셀라 항체 엘리자 2.0

동물용 의료기기

[제품명]

인수공통전염병면역검사시약[3]

[형명]

BIONOTE Bovine Brucella Ab ELISA 2.0

[개요]

본 제품은 소의 혈청, 혈장, 원유(집합유)에서 브루셀라균 LPS 에 대한 항체를 검사하는 엘리자 키트입니다. 본 제제는 정제된 LPS 가 흡착된 96 well microplate 와 소 감마글로불린에 대한 단일클론 항체에 HRP 를 접합시킨 conjugate 를 이용합니다. 따라서 소 혈청, 혈장 및 원유 내에 있는 소 브루셀라 항체를 Indirect ELISA 원리로 검출할 수 있습니다.

[제품의 구성표]

| 번호 | 명칭 | 세부구성 | 외관상 특징 |
|----|------------------------|--------------------------------------|-------------------------|
| 1 | 항원 흡착 플레이트 | 1. 8 wells * 12 스트립/장 2. 96 wells | 무색 평면 바닥 형태의 폴리스틸렌 플레이트 |
| 2 | 음성 대조액 (혈청) | 단일 | 연한 파랑 내지 파랑색의 액상제제 |
| 3 | 약양성 대조액 (혈청) | 단일 | 연한 빨강 내지 빨강색의 액상제제 |
| 4 | 강양성 대조액 (혈청) | 단일 | 연한 빨강 내지 빨강색의 액상제제 |
| 5 | 음성 대조액(원유) | 단일 | 하얀색 내지 미황색의 액상제제 |
| 6 | 양성 대조액(원유) | 단일 | 하얀색 내지 미황색의 액상제제 |
| 7 | 농축 검체 희석액 (5 배 농축액) | 단일 | 연한 주황 내지 주황색의 액상제제 |
| 8 | 농축 세척액 (10 배 농축액) | 단일 | 무색 내지 옅은 담황색의 액상 제제 |
| 9 | 농축 접합체액 (101 배 농축액) | 단일 | 무색 내지 미황색의 액상 제제 |
| 10 | 접합체 희석액 | 단일 | 초록 내지 진한 초록색의 액상제제 |
| 11 | TMB 기질액 | 단일 | 무색 내지 미황색의 액상 제제 |
| 12 | 반응 정지액 | 단일 | 무색의 액상 제제 |
| 13 | 플레이트 밀봉테이프 | | |
| 14 | 인서트 | | |

[사용 목적]

엘리자 방법에 의한 소 혈청, 혈장, 원유(집합유)중의 브루셀라균 LPS 에 대한 항체 검사

[사용 방법]

1. 검체 준비 및 저장방법

- 1) 소 혈청, 혈장 및 원유를 검체로 사용할 수 있으나 심하게 용혈되거나 상한 검체는 쓸 수 없습니다. 혈구나 혈액 응고 성분 등의 고형물이 있는 검체는 비특이 반응을 유발하므로 가능한 사용하지 않습니다.
- 2) 검체 채취 시 넣어주는 전형적인 항응고제(EDTA, citrate, 헤파린)는 본 검사법을 방해하지 않습니다.
- 3) 혈청이나 혈장 검체는 2~8 °C에서 보관할 경우 3 일까지 본 시약을 이용한 검사에 사용 가능하며, 3 일 이상 보관 시에는 -20 °C에서 보관합니다. 원유는 채취 즉시 사용하거나 2~8 °C에서 보관할 경우 3 일까지 사용 가능합니다.
- 4) 용혈이 심하거나 미생물에 오염된 검체의 경우는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 주의합니다.
- 5) 혈청 검체의 경우 비동화(56 °C, 30 분) 유무가 판정 결과에 영향을 미치지 않습니다.
- 6) Milk 검체의 경우 Pooling 하여 검사할 수 있습니다.

2. 검사 전 준비사항

- 1) 시약을 약 30 분 전에 실온(18~25 °C)에 꺼내어 둡니다. 시험 종료까지 제품에 포함된 각종 용액은 실온에 두도록 합니다.
- 2) 시험 후 남은 항원 흡착 플레이트는 자체 은박포에 실리카겔 포와 함께 잘 밀봉하여 2~8 °C에서 냉장 보관합니다.
- 3) 검체는 사용 전에 충분히 혼합하여 사용합니다.
- 4) **시액의 조제**

(1) 검체 희석액의 준비

농축 검체 희석액(5 배)을 정제수(탈이온수나 증류수)로 5 배 희석합니다. (예, 증류수 400 ml 농축 검체 희석액 100 ml을 첨가하여 검체 희석액을 조제합니다.)

(2) 세척액의 준비

농축 세척액(10 배 농축액)을 정제수(탈이온수나 증류수)로 10 배 희석합니다. (예, 증류수 450 ml 농축 세척액 50 ml을 첨가하여 세척액을 조제합니다.)

(3) 접합체액의 준비

농축 접합체액(101 배)을 접합체 희석액으로 101 배 희석합니다. (예, 접합체 희석액 5 ml 농축 접합체액 50 μ l을 첨가하여 접합체액을 제조합니다.)

(4) 조제한 시액의 보관조건 및 보존기간은 다음과 같습니다.

| 조제시액 | 보관조건 | 보존기간 |
|--------|---------|------|
| 검체 희석액 | 2~30 °C | 1 주일 |

| | | |
|------|---------|------|
| 세척액 | 2~30 °C | 1 주일 |
| 접합체액 | 2~8 °C | 8 시간 |

5) 키트의 구성물을 다른 제품과 혼용하여 사용하지 않습니다.

3. 검사과정

1) 검사를 시작하기 전에 시약 구성물들은 상온에 꺼내두고(실온에 적응될 때까지), 가볍게 흔든 후 사용하며, 검사에 필요한 well 수를 결정하고 사용하고 남은 well 은 자체 은박포에 실리카겔과 함께 밀봉하여 2~8 °C에 보관합니다.

2) 검체의 분주

(1) 검체가 혈청 혹은 혈장일 경우

가) 1X 로 제조한 검체 희석액으로 검체를 50 배 희석(희석액 490 μl 에 검체 10 μl 를 넣어 희석합니다.)하고 **음성 대조액, 강양성 대조액, 약양성 대조액은 희석하지 않습니다.**

나) 플레이트의 각 well 에 음성 대조액, 양성 대조액, 그리고 검사 하고자하는 시료들을 100 μl 씩을 각각 분주합니다. 이때 시험결과의 신뢰성 향상을 위하여 음성 대조액은 2 wells 씩 분주하고, 약양성 대조액은 2 wells 씩, 강양성 대조액은 3 wells 씩 분주합니다.

다) 검체가 분주된 플레이트를 첨부된 밀봉테이프로 밀봉합니다.

(2) 검체가 원유일 경우

항원코팅 플레이트의 각 well 에 음성 대조액(원유), 양성 대조액(원유), 검사하고자 하는 시료를 각각 100 μl 씩 분주합니다. 이때 시험결과의 신뢰성 향상을 위하여 음성 대조액은 2 wells 를, 양성 대조액은 3 wells 씩 분주합니다.

3) 밀봉한 플레이트를 37 °C에서 60 분 동안 반응시킵니다.

4) 세척액을 **‘시액의 조제([사용 방법]의 2-검사 전 준비사항 ‘4)’** 항에 따라 조제합니다.

5) 반응 후 각 well 의 내용물을 흡입하고 세척액으로 5 회 세척합니다. well 내의 내용물을 흡입장치로 제거한 후, 세척액을 well 에 완전히 채우고(well 당 약 350 μl 씩)다시 세척액을 흡입하는 방법으로 5 회 반복한 다음, 잔여 용액을 제거합니다.

6) 접합체액을 **‘시액의 조제([사용 방법]의 2-검사 전 준비사항 ‘4)’** 항에 따라 조제합니다.

7) 접합체액을 모든 well 에 100 μl 씩 분주하고 첨부된 밀봉테이프로 밀봉하고, 37°C에서 30 분 동안 반응시킵니다.

8) ‘5’ 의 방법으로 세척을 실시합니다.

9) TMB 기질액을 모든 well 에 100 μl 씩 분주하고 빛을 차단한 후 15 분간 실온에서 반응시킵니다.

10) ‘9’ 의 반응이 끝난 플레이트에 반응 정지액을 well 당 100 μl 씩 넣고 잘 혼합하여 청색이 노란색으로 완전히 변하도록 합니다.

11) 공기를 맹검으로 하여 (Air blank) 음성 대조액, 양성 대조액 그리고 각 검체의 흡광도를 측정합니다. 이때 흡광도의 측정 파장은 450 nm 로 하고, 이중 파장흡광도 측정기(dual wavelength reader)를 사용할 경우 참조파장은 620 nm 로 하며 반응 정지액을 넣고 30 분 이내에 흡광도 값을 측정합니다.

4. 결과판정

1) 판정 기준값(Percent Positivity : %P) 계산

[혈장 및 혈청 검체의 경우]

(1) 음성 대조액(혈청)평균값 계산

상기 검사방법에 따라 음성 대조액의 흡광도를 얻은 다음 그 두 값의 평균값을 산출합니다.

(2) 강양성 대조액(혈청) 평균값 계산

상기 검사방법에 따라 강양성 대조액의 흡광도를 얻은 다음 그 세 값의 평균값을 산출합니다.

(3) %P 값 계산

$\%P \text{ value} = (\text{샘플 흡광도} / \text{강양성 대조액 평균 흡광도}) \times 100$

예) 샘플 흡광도 = 1.870, 강양성 대조액의 평균 흡광도 = 2.124

$\%P \text{ value} = (1.870 / 2.124) \times 100 = 88$

결과 판정 : 양성

[원유 검체의 경우]

(1) 음성 대조액(원유)평균값 계산

상기 검사방법에 따라 음성 대조액의 흡광도를 얻은 다음 그 두 값의 평균값을 산출합니다.

(2) 양성 대조액(원유) 평균값 계산

상기 검사방법에 따라 양성 대조액의 흡광도를 얻은 다음 그 세 값의 평균값을 산출합니다.

(3) %P 값 계산

$\%P \text{ value} = (\text{샘플 흡광도} / \text{양성 대조액(원유) 평균 흡광도}) \times 100$

2) 결과의 판정

(1) 음성 : 판정 기준값 미만의 %P 값을 나타내는 검체는 음성으로 판정합니다.

(2) 양성 : 판정 기준값 이상의 %P 값을 나타내는 검체는 양성으로 판정합니다.

(3) 1 차 검사에서 양성 판정 검체는 2 wells 이상 재검사하고 재검 결과에서 1 well 이상 양성으로 판정되면 최종양성으로 판정합니다.

(4) 최종 양성 판정된 검체는 다른 임상결과나 실험결과를 함께 이용하여 전문 수의사가 종합적으로 최종 진단을 내려야 합니다.

(5) 판정 기준값(%P value)

| 검체의 종류 | 혈청 및 혈장 | 원유 |
|---------|---------|-------|
| 양성 %P 값 | 25 이상 | 15 이상 |
| 음성 %P 값 | 25 미만 | 15 미만 |

5. 정도관리

1) 음성 대조액(혈청)

음성 대조액(혈청)은 2 well 을 이용하여 시험하여야 한다. 평균 흡광도는 -0.005 이상, 0.2 이하이어야 한다. 만약 1 개의 값이 범위를 벗어났을 경우 검사시약이나 시약에 문제가 있는 것이므로 그 원인을 확인한 후 재검사하여야 한다.

2) 약양성 대조액(혈청)

약양성 대조액(혈청)은 2 well 을 이용하여 시험하여야 한다. 평균 흡광도는 0.5 이상이어야 한다. 만약 1 개의 값이 범위를 벗어났을 경우 검사시약이나 시약에 문제가 있는 것이므로 그 원인을 확인한 후 재검사하여야 한다.

3) 강양성 대조액(혈청)

강양성 대조액(혈청)은 3 well 을 이용하여 시험하여야 한다. 평균 흡광도는 1.0 이상이어야 한다. 만약 1 개 값이 범위를 벗어났을 경우 나머지 2 개 값의 평균값으로 산출한다. 만약 2 개 이상의 값이 위 범위를 벗어났을 경우에는 검사과정이나 시약에 문제가 있는 것이므로 그 원인을 확인한 후 재검사하여야 한다.

4) 음성 대조액(원유)

음성 대조액(원유) 은 2 well 을 이용하여 시험하여야 한다. 평균 흡광도는 0.2 이하이어야 한다. 만약 1 개의 값이 범위를 벗어났을 경우 검사시약이나 시약에 문제가 있는 것이므로 그 원인을 확인한 후 재검사하여야 한다.

5) 양성 대조액(원유)

양성 대조액(원유)은 3 well 을 이용하여 시험하여야 한다. 평균 흡광도는 1.0 이상이어야 한다. 만약 1 개 값이 범위를 벗어났을 경우 나머지 2 개 값의 평균값으로 산출한다. 만약 2 개 이상의 값이 위 범위를 벗어났을 경우에는 검사과정이나 시약에 문제가 있는 것이므로 그 원인을 확인한 후 재검사하여야 한다.

[사용 시 주의사항]

1. 체외진단용 시약으로만 사용합니다.
2. 검체는 소 브루셀라 세균 등의 감염 가능성이 있는 것이므로 취급에 주의합니다.
3. 용혈이 심하거나 미생물이 심하게 오염된 검체는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 신선한 검체를 시료로 사용합니다.
4. 검체 내의 혈구 찌꺼기, 혈액 응고성분 등의 고형물은 세척할 때 완전히 제거되지 않으면 well 의 한 부분으로부터 시작되는 비특이 반응을 유발하므로 특히 주의해야 합니다.
5. 만약의 경우 well 의 한 부분에서부터 발색반응이 나오기 시작하면 음성으로 간주하지 않습니다.
6. 감염 가능물질을 취급할 때는 1 회용 비닐장갑 등을 착용하고 취급 후에는 손을 세정제로 깨끗이 닦습니다.
7. 기질액과 반응 정지액은 피부에 닿지 않도록 주의합니다.
8. 실험에 사용한 고형폐기물은 121 °C에서 15 분 이상 고압 증기 멸균하여 폐기합니다.

9. 실험에 사용되었던 액체 폐기물은 차아염소산나트륨용액을 1 % 이상 되도록 첨가하여 12 시간 이상 담가 감염성을 완전히 제거한 후에 폐기합니다.
10. 이 검사키트는 농림축산검역본부 및 시도 가축방역기관에 한하여 사용할 수 있습니다.
11. 본 제제는 여러 가지 요인으로 위양성, 위음성 결과의 가능성을 완전히 배제할 수 없으므로 본 제품의 결과만으로 최종 진단할 수 없습니다.
12. 전문 수의사가 사용하며, 다른 검사결과와 임상소견에 근거하여 최종 진단하여야 합니다.

[포장 단위]

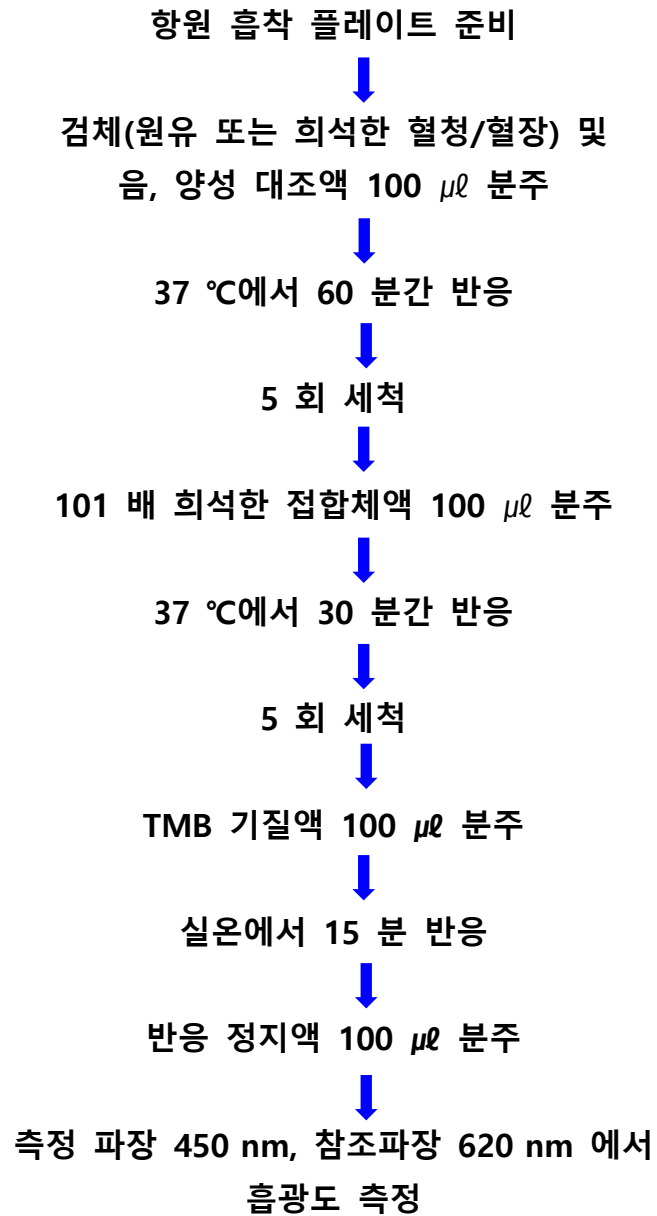
| 원료약품/포장단위 | 96 tests/kit (8 wells X 12 스트립/장) | 480 tests/kit (8 wells X 12 스트립/장) | 960 tests/kit (8 wells X 12 스트립/장) |
|------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|
| 항원 흡착 플레이트 | 1 장 | 5 장 | 10 장 |
| 음성 대조액(혈청) | 1병 (1.0 mL/병) | 1병 (4.0 mL/병) | 2병 (4.0 mL/병) |
| 약양성 대조액(혈청) | 1병 (1.0 mL/병) | 1병 (4.0 mL/병) | 2병 (4.0 mL/병) |
| 강양성 대조액(혈청) | 1병 (1.0 mL/병) | 1병 (4.0 mL/병) | 2병 (4.0 mL/병) |
| 음성 대조액(원유) | 1병 (1.0 mL/병) | 1병 (4.0 mL/병) | 2병 (4.0 mL/병) |
| 양성 대조액(원유) | 1병 (1.0 mL/병) | 1병 (4.0 mL/병) | 2병 (4.0 mL/병) |
| 농축 검체 희석액 (5 배 농축액) | 1병 (25 mL/병) | 1병 (125 mL/병) | 1병 (250 mL/병) |
| 농축 세척액 (10 배 농축액) | 1병 (50 mL/병) | 1병 (250 mL/병) | 2병 (250 mL/병) |
| 농축 접합체액 (101 배 농축액) | 1병 (0.3 mL/병) | 1병 (1.2 mL/병) | 1병 (2.5 mL/병) |
| 접합체 희석액 | 1병 (15 mL/병) | 1병 (80 mL/병) | 1병 (150 mL/병) |
| TMB 기질액 | 1병 (12 mL/병) | 1병 (60 mL/병) | 2병 (60 mL/병) |
| 반응 정지액 | 1병 (15 mL/병) | 1병 (80 mL/병) | 1병 (150 mL/병) |
| 플레이트 밀봉테이프 | 2장 | 10장 | 20장 |
| 인서트 | 1장 | 1장 | 1장 |

[저장 방법 및 사용기한]

| 구성시약 | 개봉여부 | 보관조건 | 유효기간 | 비고 |
|---------------|------|----------------------|-------|-------------------|
| 항원 흡착 플레이트 | 미개봉 | 온도 2~8 °C, 밀봉, 실리카겔 | 12 개월 | 완제품 |
| | 개봉 | 온도 2~8 °C, 재밀봉, 실리카겔 | 7 일 | 가급적 빠른 시일 내 사용 |
| 각종 용액 | 미개봉 | 온도 2~8 °C, 밀폐 | 12 개월 | 완제품 |
| | 개봉 | 온도 2~8 °C, 재밀폐 | 12 개월 | |

※ 검사키트는 냉동보관하지 않도록 주의합니다.

Quick guide line



발행일: 2022 년 6 월 2 일

문서번호: I4301-7K



(주)바이오노트 18449 경기도 화성시 삼성1로 4길 22
TEL: 031-211-0516 | FAX : 031-8003-0618 | www.bionote.co.kr